

細胞成長因子を中心とした筋の発生と再生の制御に関わる因子についての解析

横山 成俊¹、板原 裕一¹、木村 一郎¹、浅原 弘嗣²

(¹早稲田大学人間科学学術院、²国立成育医療センター研究所)

Analysis of molecular network of muscle development and regeneration.

Shigetoshi.Yokoyama¹, Yuuichi.Itahara¹, Ichiro.Kimura¹, and Hiroshi.Asahara²

(¹Faculty of Human Sciences, Waseda University, and ²National Research Institute for Child Health and Development)

近年の再生医療研究の発展により、試験管内で発生させた臓器を患者に供給する時代が来るのは確実であると思われる。しかし、ある臓器が生体内でどういう機序で発生してくるかについての知見は、まだ不十分である。例えば、筋ジストロフィーという難病を抱えている患者の健康とはどういうものかを考えてみる時、実際に患者は存在し、苦しんでいる。実際、筋ジストロフィー患者の体内では筋損傷からの再生の営みが自力で行なわれている。筋の損傷と再生は、健康な我々の身体の中でも頻繁に起こっている身近な現象である。筋ジストロフィーの患者ではその再生が損傷に追いつかないのである。このような健康発達、生命体の発生という観点から、筋の発生・再生の機構の解明と筋ジストロフィーという遺伝病の克服を最終的な目標とする基礎的知見の集積を目的として、我々は筋発生に関わる様々な分子とその作用を、主にニワトリ胚を用いて研究して来た。ニワトリ受精卵は安価で大量購入が可能、発生ステージを揃えやすい、などの利点がある。また、卵殻に小窓を開ければその複雑な発生現象を長期間に渡って観察することが可能で、卵殻内で胚に操作を加え、さらに長期間正常発生をさせることが可能な唯一と言っていい脊椎動物である。また多くの重要な生体分子は種を超えて高度に保存されていることが多い。

我々はこれまで、様々な臓器・組織発生において重要な役割を果たしていることが知られている肝細胞成長因子/分散因子(Hepatocyte growth factor/Scatter factor : HGF/SF)の筋の発生と再生における作用を調べてきた。HGF/SFは四肢発生過程において、肢芽間充織中に特異的に発現し、そのレセプターc-Metは、筋前駆細胞が存在する体節中の皮筋節に発現している。HGF/SFおよび c-metのノックアウトマウスではいずれもが四肢の筋形成を完全に欠如する。我々はHGF/SFが筋芽細胞の増殖と移動を促進することをニワトリ初期胚体節を用いた組織培養、タイムラプスビデオ撮影および成体由来筋衛星細胞の初代培養系、各種筋特異的抗体を用いた免疫染色等を用いて

示して来た。さらに我々はHGF/SFを湿潤させたビーズを初期胚体幹の正中線上へ*in ovo*で移植すると、本来神経管と外胚葉のみが存在する場所に異所性のキャップ状筋集合が観察されたことから、これまで疑問視されて来たHGF/SFの筋芽細胞に対するchemoattractant(走化性誘因因子)としての機能を再考するに至っている。また、移動、走化性という現象を理解するため、培養皿にペニシリンカップを置き、解離した筋芽細胞をその中に入れ、細胞を接着させた後カップを除去し、培養液中にHGF/SFを加えた時の細胞の移動距離(面積)の測定を行なうMigration assayを行なった。その結果、HGF/SF添加で約1.7倍の移動の促進が観察された。また、3.5日胚前肢芽の組織培養を行ない、本来筋が存在しない肢芽先端部を切除し、その切除先端部付近にHGF/SFビーズを静置すると、有意にHGF/SFビーズの周囲へのみ筋原細胞の這い出しと集合が観察された。これらは筋細胞のマーカーであるデスミンの抗体を用いた染色の結果からも明らかであった。以上の結果はHGF/SFがある筋芽細胞集団に対してはchemoattractantとしても機能している可能性を強く示唆している。

近年、様々な組織幹細胞が単離・同定され、これまで想像もつかなかった発生現象の多様性が明らかになりつつある。筋再生に関してもこれまで言われて来た筋衛星細胞という未分化な単一の予備細胞集団が関与するというだけではなく、由来を異にする幹細胞集団の複雑な関与の結果として行なわれていることが明らかにされている。

我々はHGF/SFのみならず、FGF, TGF- β ファミリーなどの成長因子の筋の発生と再生への関与と、幹細胞の可塑性、筋再生現象の複雑さをさらに理解するため、今後新規筋関連転写因子の同定や成長因子との関連などについてマウス胚まで幅を広げて統合的に検討していく予定である。今後、分子発生学的な立場から筋の発生と再生の現象の理解に取り組むつもりである。